脂联素抑制 AKT 信号拮抗砷诱导肝细胞脂质沉积

杨 渊 *，符锦玉，龚亚波，戴宗英

广西卫健委全生命周期健康与保健研究重点实验室，桂林医学院公共卫生学院，桂林 541199

[摘要] **目的** 探讨重组人脂联素（adiponectin, APN）对砷诱导肝 HepG-2 细胞脂质沉积的干预效应及其分子机制。**方法** 实验分为对照组、亚砷酸钠（SA）染毒组、rAPN 干预+SA 染毒组、蛋白激酶 B（AKT）抑制剂（GSK690693）干预+SA 染毒组，分别对体外培养的 HepG-2 细胞进行处理，通过细胞涂片油红 O 染色观察细胞脂质沉积特征，应用生物化学及酶联免疫吸附试验（ELISA）检测线粒体膜电位（ΔΨm）、线粒体肉碱棕榈酰转移酶 1(CPT-1)活性、游离脂肪酸（FFAs）和 APN 含量，免疫印迹检测磷酸化 AKT（p-AKT）、线粒体谷胱甘肽 S 转移酶 K1（GSTK1）和炎症因子半胱天冬酶 1（Caspase-1）水平。 **结果** 相比对照组，SA 染毒组显示细胞内脂质沉积，ΔΨm、CPT-1 活性、GSTK1 和 APN 水平下降，而 FFAs、p-AKT 和 Caspase-1 水平上调。相比 SA 染毒组，重组人 APN 干预后显示细胞脂质沉积程度减轻，ΔΨm、CPT-1 活性、GSTK1 和 APN 水平升高，而 FFAs、p-AKT 和 Caspase-1 水平下调。类似地，GSK690693 干预后亦显示细胞脂质沉积程度减轻，ΔΨm、CPT-1 活性、GSTK1 水平升高，p-AKT 和 Caspase-1 水平下调。**结论** 砷诱导 HepG-2 细胞脂质沉积与 AKT 信号激活有关，脂联素可通过抑制 AKT 信号拮抗砷诱导肝细胞脂质代谢障碍及脂质沉积发生。

[关键词] 砷；HepG-2 细胞；脂质沉积；脂联素；蛋白激酶 B

[中图分类号] R99　　[文献标识码] A

Adiponectin inhibits AKT signaling and antagonizes arsenic-induced lipid deposition in hepatocytes

Yang Yuan *, Fu Jinyu, Gong Yabo, Dai Zongying

Guangxi Key Laboratory of Environmental Exposure Omics and Life Cycle Health, School of Public Health, Guilin Medical College, Guilin 541199, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effects and molecular mechanism of recombinant human adiponectin (APN) on arsenic induced lipid deposition in hepatic HepG-2 cells. **Methods** The experiments were divided into control group, sodium arsenite (SA) exposure group, rAPN

intervention + SA exposure group, and protein kinase B (AKT) inhibitor (GSK690693) intervention + SA exposure group. After cultured HepG-2 cells in vitro were treated respectively, the characteristics of cellular lipid deposition were observed by oil red O staining of cells smears, and the methods of biochemical or enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) were applied to determine the levels of intracellular mitochondrial membrane potential (ΔΨm), mitochondrial carnitine palmitoyltransferase-1 (CPT-1) activity, free fatty acids (FFAs) and APN. Western-blotting (WB) was applied to detect the levels of phosphorylated AKT (p-AKT), mitochondrial Glutathione S-transferase K1 (GSTK1) and inflammatory factor Caspase-1. **Results** Compared with control group, SA exposed group showed intracellular lipid deposition and the decreased levels of mitochondria ΔΨm, CPT1 activity, GSTK1 or APN, while the levels of FFAs, p-AKT and Caspase-1 increased. Compared with SA exposed group, recombinant human APN (rAPN) intervention led to the alleviated lipid deposition in hepatocytes and the increased levels of ΔΨm, CPT1 activity, GSTK1 or APN, while the levels of FFAs, p-AKT and Caspase-1 decreased. Similarly, the intervention of AKT inhibitor showed also the reduced cellular lipid deposition and the upregulated levels of ΔΨm, CPT1 or GSTK1, while the levels of p-AKT and caspase-1 downregulated. **Conclusion** Arsenic induced lipid deposition in HepG-2 cells is associated with AKT signaling, and APN can antagonize arsenic-induced lipid metabolism disorder and lipid deposition in hepatocytes via inhibiting AKT signaling.

[**Keywords**] Arsenic; HepG-2 cells; lipid deposition; adiponectin; protein kinase B

作者简介：杨渊，男（1977 年），苗族，博士、教授，主要从事环境毒理学研究。

通讯作者(To whom correspondence should be addressed)：yang1977yuan@126.com

砷作为一种环境高毒性化学污染物，可通过土壤、饮用水或食物污染，经消化道摄入而导致肝毒性，与非酒精性脂肪肝病、2 型糖尿病、心血管疾病等慢性病发生风险增加密切相关[1-2]。实验发现，砷暴露可诱导小鼠肝脏胰岛素抵抗、肝细胞脂肪变性和肝脏脂质沉积[3]，但其分子调控机制尚不清楚。脂联素（adiponectin, APN）是由人体脂肪细胞、内皮细胞、骨骼肌细胞、肝细胞等多种细胞分泌的一种分子量约 30 kDa、调节脂质代谢的小分子蛋白[4]，具有胰岛素增敏、抗氧化和抗炎效应[5]。线粒体是细胞内脂质代谢发生场所，既往研究发现 APN 与其受体 adipoR1/2 结合，可激活 AMP 活化蛋白激酶（AMP activated protein kinase, AMPK），AMPK

进而刺激过氧化物酶体增殖物激活受γ辅激活因子 1α（PGC-1α）与过氧化物酶体增殖物激活受体 α（PPARα）的结合，诱导线粒体脂肪酸代谢酶如肉碱棕榈酰转移酶 1（carnitine palmitoyl transferase 1, CPT-1）表达，CPT-1 介导游离脂肪酸（FFAs）进入线粒体以完成克雷布斯（Krebs）循环，促进线粒体脂肪酸β氧化代谢[6-7]。因此，肝细胞线粒体功能障碍可导致脂肪酸 β 氧化障碍、FFAs 不能被氧化而通过酯化为甘油三酯（TG），从而以脂肪滴的形式积聚在肝细胞中，在肝细胞脂质沉积及肝脏脂肪变进程中扮演重要角色[8]。为探讨 APN 对砷诱导的肝细胞毒性的影响及其机制，本研究以体外培养的人来源肝细胞系 HepG-2 细胞为对象，应用亚砷酸钠（sodium arsenite, SA）染毒，探讨 APN 对其诱导 HepG-2 细胞毒性的干预效应及其分子机制。

材料与方法

1 试剂与仪器

亚砷酸钠（$NaAsO_2$，SA，Sigma-Aldrich 公司）；HepG-2 细胞（长沙南科生物公司）；重组人 APN（rAPN, 4901，Biovision 公司）；蛋白激酶 B（AKT）抑制剂（GSK690693，S81130，MedMol）；ELISA 检测试剂盒：APN（SEA605Hu，上海钰博生物）；游离脂肪酸（FFA，294-63601，日本 Wako 公司）；线粒体肉毒碱棕榈酰转移酶检测试剂盒（CPT-1，QYS-239012，上海齐一生物）；线粒体膜电位 JC-1 检测试剂盒（ΔΨm，C2006，Beyotime 公司）。一抗：兔抗磷酸化-蛋白激酶 B（AKT）1/2/3 抗体（p-AKT, ab192623，Abcam 公司）、兔抗谷胱甘肽 S 转移酶 K1（GSTK1）抗体（ab52759，Abcam 公司）、兔抗半胱天冬酶 1（Caspase-1）抗体（ab207802，Abcam 公司）；兔抗β-actin 抗体（PA1183，Invitrogen 公司）。二抗：山羊抗 HRP-IgG（31413，Invitrogen 公司）。仪器：荧光分光光度计（970CRT，上海仪电公司）；酶标仪（800 TS，BioTek 公司）；荧光显微镜（DM2500，Leica 公司）；Odyssey® FC 成像系统（Fc，LI-COR 公司）。

2 实验分组

以体外培养 HepG-2 细胞为对象，以 SA 作为染毒剂，rAPN 或 AKT 抑制剂 GSK690693 作为干预剂，实验分为对照组（Control；细胞置于 CO_2 培养箱，常规 37℃、5%CO_2 条件培养，48 h）、SA 染毒组（SA；4 μmol/L，48 h）、rAPN 干预+SA 染毒组（rAPN+SA；SA 染毒前 2 h 给予 2.0 μg/ml rAPN 干预处理）[9]、AKT 抑制剂（GSK690693）干预+SA 染毒组（GSK690693 + SA；1 μmol/L GSK690693，SA 染毒前 2 h 干预处理）[10]。实验结束后，收集细胞悬液，用于油红 O 染色、生物化学实验、酶联免疫吸附试验（E LISA）和免疫印迹（Western blot）实验分析。

3　细胞油红 O 染色

以 DMEM 培养基为介质，对 HepG-2 细胞进行 SA 染毒，或施加 rAPN 或 AKT 抑制剂预处理干预后，收集细胞进行细胞油红 O 染色。操作步骤简述如下：细胞实验结束后，去除培养基，然后用 10%中性甲醛溶液固定细胞，蒸馏水冲洗，继而取油红 O 染色液置于细胞培养皿进行染色 10~15 min，至显微镜下观察出现红色脂滴即终止染色，随后用 60%乙醇镜下分化约 2 s 至间质清晰。光镜下观察细胞中脂肪颗粒分布特征（细胞胞质中桔红色颗粒或团块代表脂肪颗粒或脂质沉积，进行细胞脂肪沉积效应评价，评价方法为随机浏览 3 个显微镜视野，每个视野计数 100 个存在桔红色颗粒或团块的细胞，占总细胞计数的平均百分比（%）。

4 细胞内 FFAs、APN 含量检测

收集 HepG-2 细胞，用 PBS 稀释细胞悬液，通过反复冻融以及超声波破碎细胞（功率 300 W，超声 2 s，间隔 3 s，总时间为 3 min），使细胞破坏并放出细胞内成份。然后以 2000 r/min 离心 20 min，收集细胞培养上清，然后按照 FFAs ELISA 试剂盒操作说明书操作，通过酶标仪计于 450 nm 波长进行 OD 值检测，通过标准曲线换算为 ng/L 浓度。类似地，细胞内 APN 含量参照 ELISA 试剂盒操作说明书进行 OD 值检测，检测波长为 450 nm，测得 OD 值通过标准曲线换算成 ng/mL 浓度。

5 线粒体膜电位和 CPT-1 活性检测

按照荧光探针 JC-检测 1 试剂盒说明书进行操作：收集 HepG-2 细胞悬液，配制好 JC-1 染色工作液，然后加入细胞悬液中，颠倒数次混匀，置于细胞培养箱中 37 ℃孵育 20 min，经离心、洗涤、重悬和沉淀后，置于荧光分光光度计上进行线粒体膜电位（ΔΨm）检测（JC-1 单体检测：激发波长 490 nm，发射波长 530nm；JC-1 聚合物检测：激发波长 525 nm，发射波长 590 nm）。同时，细胞均匀涂于载玻片上，经 Mowiol 封片剂固定后，使用荧光显微镜观察细胞线粒体膜电位特征。当线粒体功能正常时，ΔΨm 较高，此时 JC-1 聚集在线粒体的基质中形成聚合物，可以产生红色荧光；线粒体功能障碍时，ΔΨm 较低，JC-1 不能聚集在线粒体的基质中，此时 JC-1 为单体，产生绿色荧光；因此，通过红色荧光强度（A）与绿色荧光强度（B）的比值（A/B）来评价评价ΔΨm 改变特征。CPT-1 活性检测：首先进行超声波破碎细胞处理，然后通过 11000 g，4 ℃离心 10 min 以分离细胞中胞浆蛋白与线粒体蛋白，线粒体蛋白质浓度（Cpr）通过 BCA 法进行分析，参照 CPT-1 检测试剂盒说明书操作，计算出细胞 CPT-1 蛋白浓度 mg/mL，进一步通过 CPT-1 活性(nmol/min/mg prot)=[ΔA×V 反总÷(ε×d)×10^9]÷(V 样×Cpr) ÷T=880×ΔA÷Cpr（ΔA 是样本加入后，在 20 秒时的初始吸光度 A1 和 2 分 20 秒时的吸光度

A2 之间的差值Δ；V 反总：反应总体积，9.6×10^{-4} L；V 样：样本体积，0.04 mL；ε:TNB 摩尔消光系数，1.36×10^4 L /mol /cm；d:比色皿光径，1cm；T:反应时间，2 min；Cpr:样本蛋白质浓度，mg/mL），换算成为酶活性单位（U），一个酶活性单位 U 定义为每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1 nmol 5-巯基-2-硝基苯甲酸（TNB）。

6 细胞内 AKT、GSTK1 及 Caspase-1 水平 Western blot 检测

收集 HepG-2 细胞，采用 RIPA 裂解液使细胞裂解分离提取总蛋白，然后通过 SDS-PAGE 电泳、转膜，加入一抗（p-AKT，1：500；GSTK1，1：1000；Caspase-1，1：800）4℃孵育过夜，经 TBS-T 缓冲液洗膜后，加入 HRP 辣根过氧化物酶标记二抗（HRP-IgG，1：5000）室温孵育 1 h，洗膜后加入 BeyoECL Plus 化学发光显影液（P0018M，超敏 ECL 化学发光试剂盒，南京碧云天生物公司）进行显影成像，然后使用 Odyssey® FC 凝胶成像系统对目的蛋白及内参β-actin 的条带积分吸光度（IA）进行定量分析，通过分别分析 p-AKT、GSTK1 和 Caspase-1（IA）与内参β-actin 比值（IA_0），评价样品中 p-AKT、GSTK1 和 Caspase-1 表达特征（IA/IA_0）。

4 统计分析

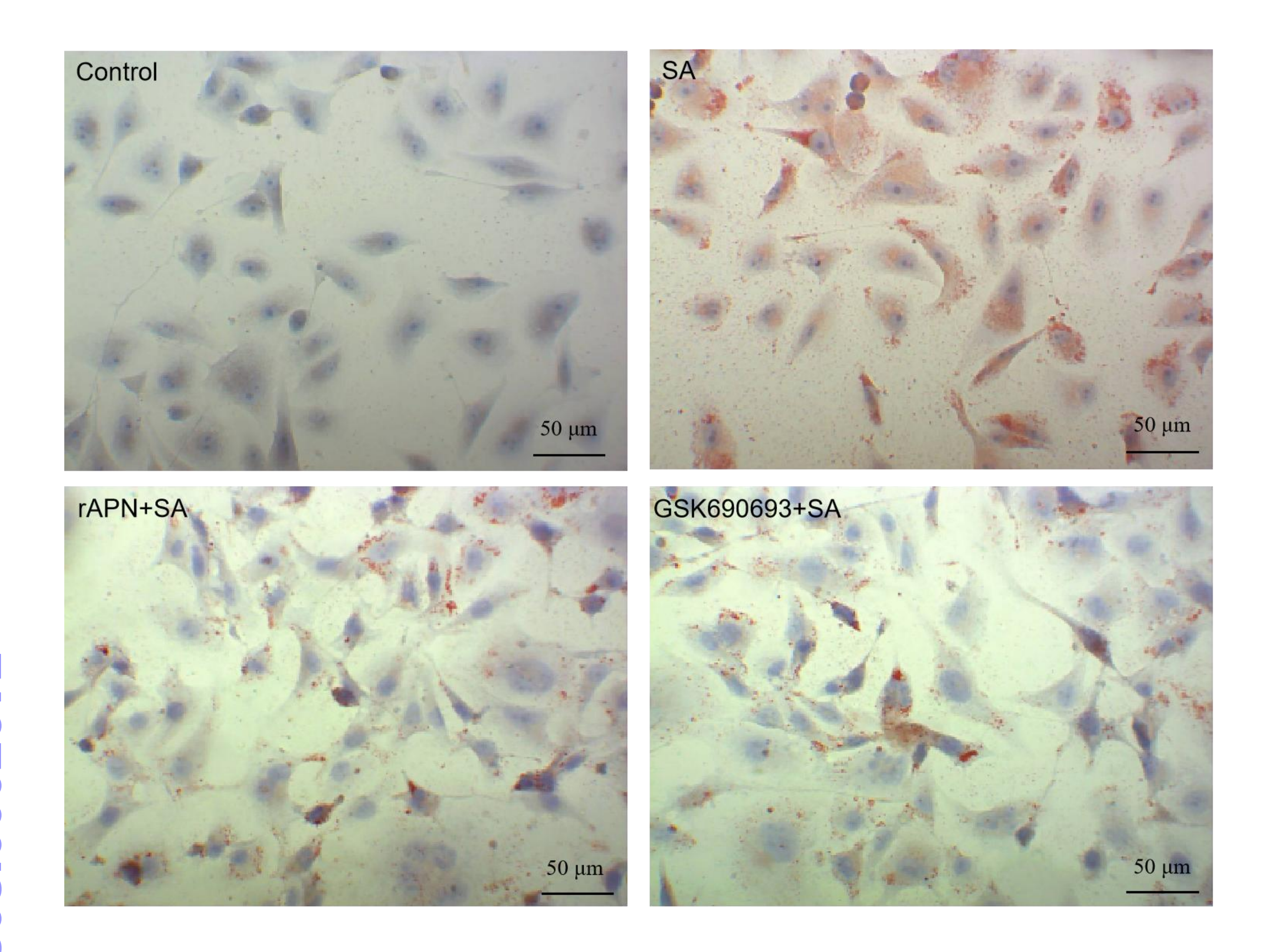
实验结果数据以均数±标准差（ $\bar{x}\pm sd$）表示，组间差异或线性趋势通过方差分析（ANOVA）、小样本 *t* 检验进行评估，统计学检验 *P* 值小于 0.05 为有统计学差异判断标准。

结 果

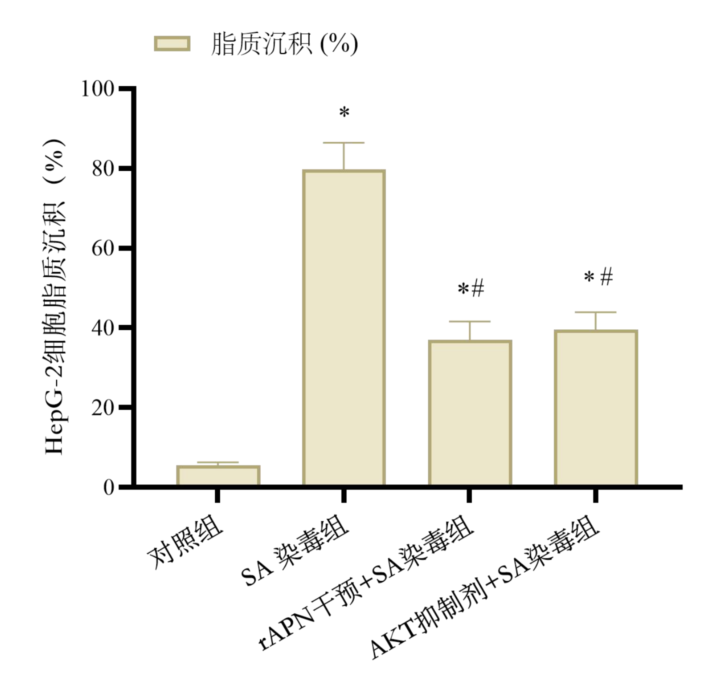
1 脂联素和 AKT 抑制剂改善亚砷酸钠诱导的 HepG-2 细胞脂质沉积

为了分析脂联素或 AKT 抑制剂对 SA 诱导 HepG-2 细胞脂质沉积的干预效应，我们以 rAPN（2.0 μg/ml）或 AKT 抑制剂 GSK690693（1 μmo/L）作为预处理干预条件，对 HepG-2 细胞进行油红 O 染色，对其脂质沉积进行评价。结果显示，与对照组相比，SA 染毒组 HepG-2 细胞脂质沉积程度显著增加，FFAs 水平升高；与 SA 染毒组相比，rAPN 或 AKT 抑制剂干预后显示 HepG-2 细胞脂质沉积程度减轻，细胞内 FFAs 水平明显降低，但仍高于对照组（图 1）。由此说明，脂联素或 AKT 抑制剂干预可改善 SA 诱导 HepG-2 细胞脂质沉积。

A


Control
SA
rAPN+SA
GSK690693+SA
50 μm
50 μm
50 μm
50 μm

B


脂质沉积 (%)
HepG-2细胞脂质沉积（%）
100
80
60
40
20
0
*
*#
*#
对照组
SA 染毒组
rAPN干预+SA染毒组
AKT抑制剂+SA染毒组

C

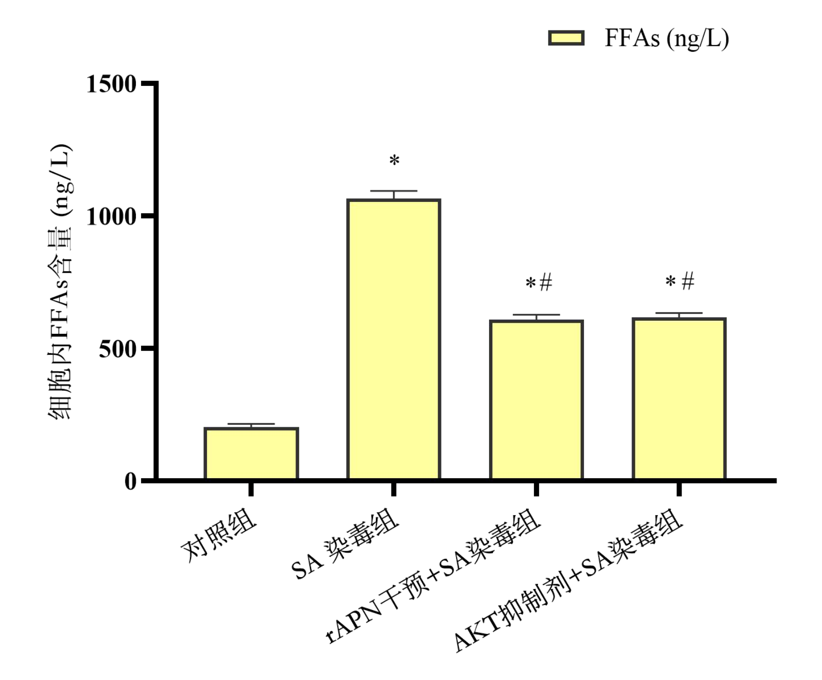


图 1 脂联素和 GSK690693 对亚砷酸钠（4 μmol/L, 48 h）诱导的 HepG-2 细胞脂质沉积的影响。A，脂质沉积的代表性油红 O 染色检测（比例尺，50 μm）；B，油红 O 染色检测的脂质沉积程度统计学分析；C，ELISA 检测 FFAs 水平统计学分析；**P*<0.05 *vs* Control 组；#*P*<0.05 *vs* SA 组；n=3

Fig. 1 Effects of adiponectin and GSK690693 on lipid deposition in the HepG-2 cells induced by sodium arsenite (4 μ mol/L, 48 h). A, representative Oil Red O staining examination of lipid deposition (scale, 50 μ m); B, statistical analysis of lipid deposition degree detected by Oil Red O staining; C, statistical analysis of FFAs levels detected by ELISA; **P*<0.05 *vs* Control group; #*P*<0.05 *vs* SA group; n=3

2 脂联素和 AKT 抑制剂减轻亚砷酸钠诱导的 HepG-2 细胞线粒体代谢障碍

为了明确 SA 是否影响 HepG-2 细胞线粒体脂质代谢及脂联素或 AKT 抑制剂对 SA 诱导的 HepG-2 细胞线粒体脂质代谢改变的影响，我们对 HepG-2 细胞线粒体膜电位、脂质代谢酶 CPT-1 和 APN 水平进行了检测。结果显示，与对照组（A/B）相比，SA 染毒组显示 HepG-2 细胞ΔΨm 下降，特征为红色荧光与绿色荧光比值降低（图 2 中 C/D），显示 CPT-1 活性和 APN 水平下降（表 1）。与 SA 染毒组（C/D）相比，rAPN 干预+SA 染毒组显示 HepG-2 细胞ΔΨm 上调（图 2 中 E/F），显示 CPT-1 活性和 APN 水平上调。与 SA 染毒组（C/D）相比，AKT 抑制剂干预+SA 染毒组显示 HepG-2 细胞ΔΨm 上调（图 2 中 G/H），显示 CPT-1 活性增强，但 APN 水平无明显变化（表 1）。由此说明，脂联素或 AKT 信号抑制可改善 SA 诱导的 HepG-2 细胞线粒体脂质代谢障碍。

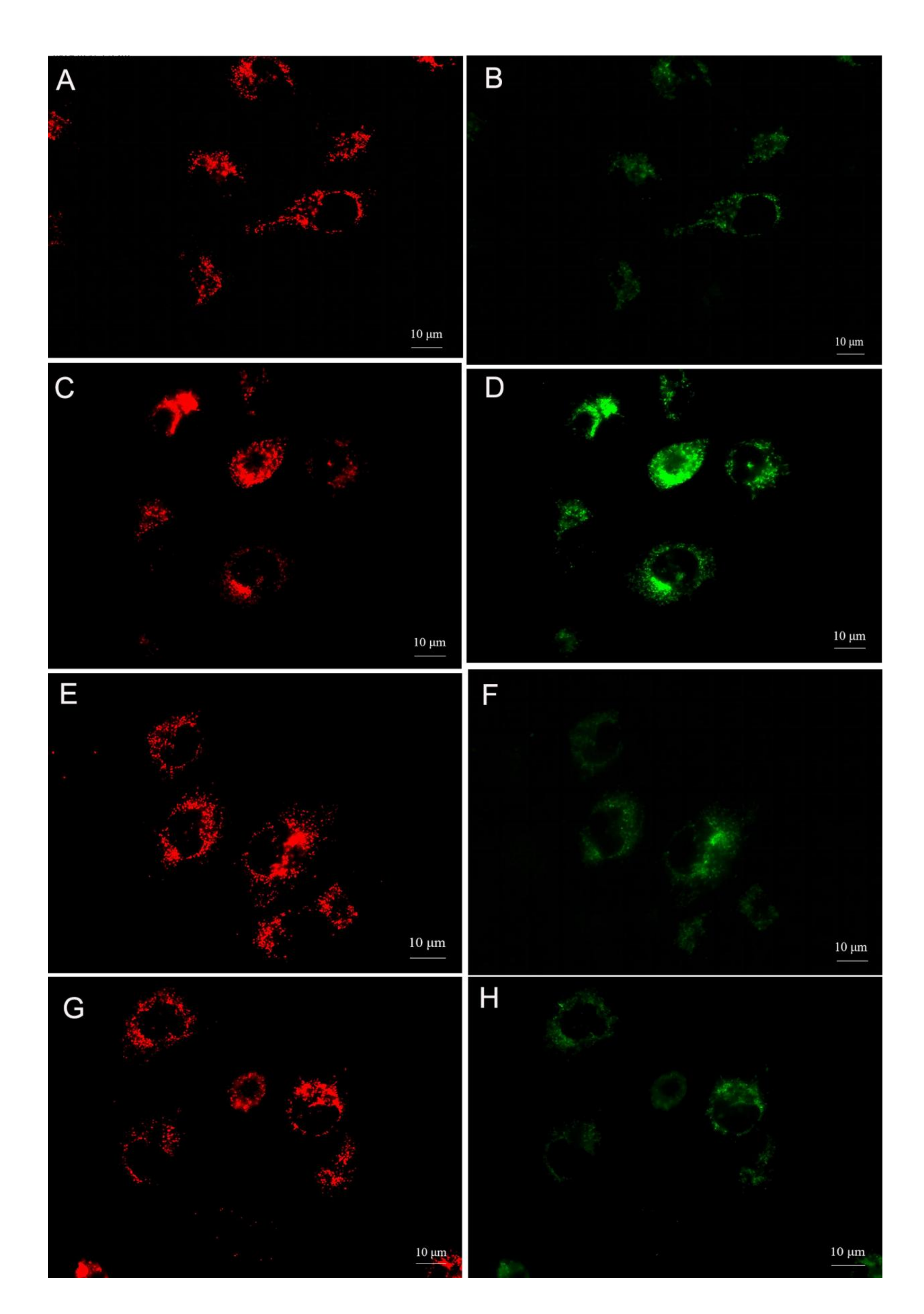


图 2　脂联素和 GSK690693 对亚砷酸钠诱导的 HepG-2 细胞线粒体膜电位变化影响的 JC-1 染色检测

细胞免疫荧光染色，×400；A:对照组（红色荧光）；B:对照组（绿色荧光）；C:SA 染毒组（红色荧光）；D:SA 染毒组（绿色荧光）；E:rAPN 干预+SA 染毒组（红色荧光）；F:rAPN 干预+SA 染毒组（绿色荧光）；G:AKT 抑制剂+SA 染毒组（红色荧光）；H:AKT 抑制剂+SA 染毒组（绿色荧光）。 ed

Fig. 2 JC-1 staining characteristics of adiponectin or GSK690693 affects the levels of ΔΨm in sodium arsenite induced HepG-2 cells

Immunofluorescence staining in HepG-2 cells, × 400; A: Control group (red fluorescence); B: Control group (green fluorescence); C: SA exposure group (red fluorescence); D: SA exposure group (green fluorescence); E: rAPN intervention+SA exposure group (red fluorescence); F: rAPN intervention+SA exposure group (green fluorescence); G: AKT inhibitor+SA exposure group (red fluorescence); H: AKT inhibitor+SA exposure group (green fluorescence).

表 1 脂联素和 GSK690693 对亚砷酸钠诱导的 HepG-2 细胞线粒体代谢障碍的影响

Tab. 1 Effects of adiponectin and GSK690693 on sodium arsenite-induced mitochondrial metabolic disorder in the HepG-2 cells

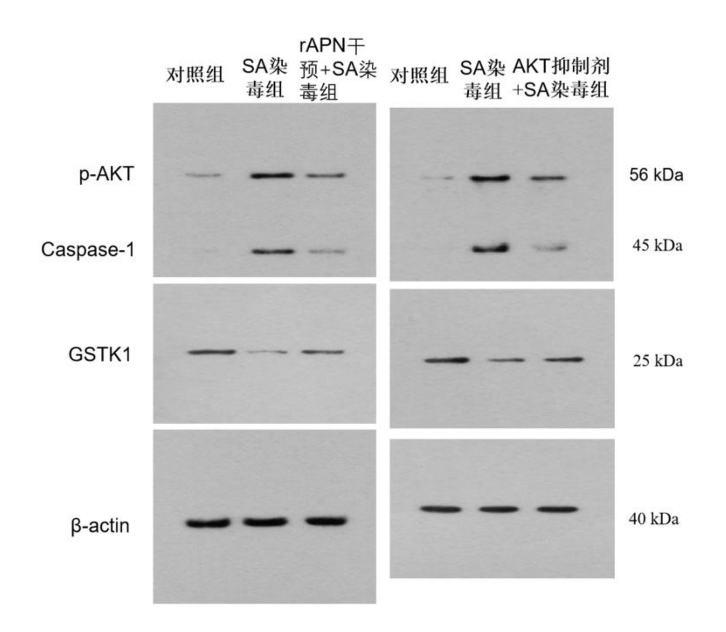
指标（单位）	Control	SA	rAPN +SA	GSK690693+SA
APN (ng/mL)	77.25±7.96	21.08±2.78*	65.75±6.21*#	23.46±3.50*
ΔΨm（A/B）	1.76±0.08	0.55±0.03*	1.12±0.13*#	1.01±0.09*#
CPT-1 活性单位（U）	24.03±2.41	7.70±1.35*	16.92±1.74*#	15.30±1.32*#

ΔΨm，线粒体膜电位；A/B，红色荧光强度（A）与绿色荧光强度比值；U，酶活力单位，1U 定义为每 mg CPT-1 蛋白每分钟催化产生 1 nmol 5-硫代-2-硝基苯甲酸；*P<0.05 *vs* Control 组；#P<0.05 *vs* SA 组；n=3

ΔΨm, mitochondrial membrane potential; A/B, ratio of red fluorescence intensity (A) to green fluorescence intensity (B); U, the CPT-1 activity unit; 1 U was defined as 1 nmol of 5-thio-2-nitrobenzoic acid catalyzed by each mg CPT-1 protein at per minute; *P<0.05 *vs* Control group; #P<0.05 *vs* SA group; n=3

3 脂联素和 GSK690693 减弱亚砷酸钠诱导的 HepG-2 细胞 p-AKT、Caspase-1 和 GSTK1 水平改变

对脂联素减弱亚砷酸钠诱导的 HepG-2 细胞脂质沉积沉积机制的进一步研究表明，SA 染毒组 p-AKT 和 Caspase-1 表达水平升高而 GSTK1 水平降低，rAPN 或 GSK690693 干预后，SA 染毒所致的 p-AKT、Caspase-1 水平上调和 GSTK1 下调被明显抑制（图 3）。由此说明，脂联素干预抑制细胞 AKT 磷酸化和 Caspase-1 信号激活，改善 GSTK1 功能活性，脂联素抑制 AKT 磷酸化激活可能是其拮抗 SA 诱导肝细胞脂质沉积的分子机制。



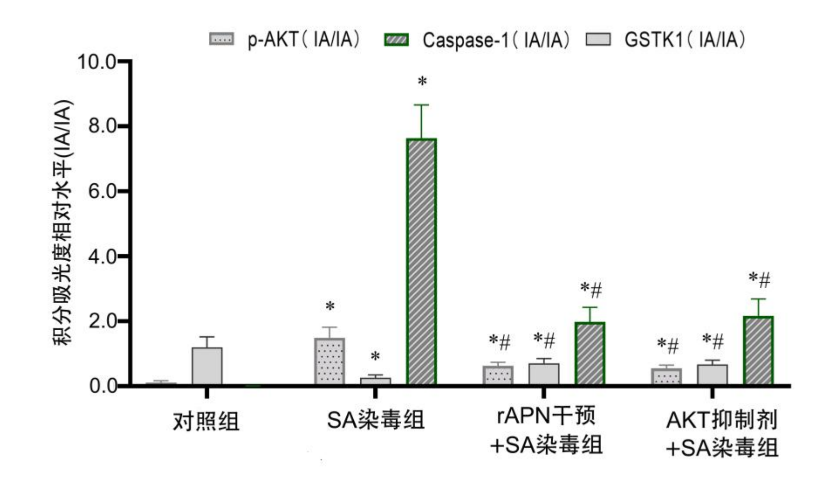


图 3 脂联素和 GSK690693 对亚砷酸钠诱导的 HepG-2 细胞 p-AKT、Caspase-1 和 GSTK1 水平改变的影响。A，p-AKT、Caspase-1 和 GSTK1 水平的代表性 Western blot 检测；B，p-AKT、Caspase-1 和 GSTK1 水平的统计学分析；$^{*}P<0.05$ *vs* Control 组；$^{\#}P<0.05$ *vs* SA 组；n=3

Fig. 3 The effects of adiponectin or GSK690693 on sodium arsenite-induced the changes of p-AKT, Caspase-1 and GSTK1 in HepG-2 cells; $^{*}P<0.05$ *vs* Control group; $^{\#}P<0.05$ *vs* SA group；n=3

讨　论

流行病学研究显示，环境砷暴露可导致人群非酒精性脂肪肝病、糖尿病发生风险升高[11]，而且，职业性砷暴露人群中亦发现肝脏脂肪沉积的影像学证据[12]。体外实验发现，线粒体脂质代谢障碍是细胞内脂质沉积发生的重要病理机制[13]，而 APN 作为一种小分子活性蛋白，可改

善细胞线粒体糖脂代谢和线粒体功能[5]，具有抑制细胞生脂基因表达、抑制细胞内脂质合成[14]、以及抗氧化、抗炎效应[8]。本研究发现，砷染毒可诱导 HepG-2 细胞发生脂质沉积和线粒体脂质代谢功能障碍，呈现出线粒体膜电位、CPT-1 活性、GSTK1 和 APN 水平下降，FFAs 和 AKT 水平上调的毒性特征，而 rAPN 或 AKT 抑制剂的干预对砷诱导的 HepG-2 细胞脂质沉积效应呈现出明显拮抗效应，由此提示，APN 拮抗砷诱导肝细胞脂质沉积效应与 AKT 信号有关。

AKT 是细胞内丝/苏氨酸蛋白激酶家族成员，参与肝细胞内脂质合成调控。研究显示，线粒体功能障碍、线粒体 DNA（mtDNA）释放可诱导磷脂酰肌醇 3 激酶（PI3K）/蛋白激酶 B（PKB/AKT）信号通路激活[16]，AKT 信号通路激活与细胞内脂滴和甘油三酯（TG）积聚密切相关[15]。而细胞内 AKT 信号抑制可上调线粒体二硫键氧化还原酶类似蛋白（DsbA-L）和 APN 表达水平[17]。DsbA-L 又名谷胱甘肽 S 转移酶 K1（GSTK1），在肝细胞线粒体表达丰富，是肝脏生物转化最重要的Ⅱ相代谢酶之一，GSTK1 可促进细胞内 APN 的合成、分泌及高分子量多聚体形成[18]，具有改善线粒体氧化应激、增强肝脂肪酸氧化和减轻肝脏脂肪变性效应[5]。在本研究中，砷诱导 HepG-2 细胞线粒体功能障碍，进而发生 AKT 磷酸化激活以及 GSTK1 和 APN 水平下调。而 rAPN 或 AKT 抑制剂干预后线粒体膜电位上调，线粒体功能改善，导致 AKT 信号抑制和 GSTK1 水平上调，这可能是其改善 HepG-2 细胞脂质沉积的分子机制。此外，本研究还发现 rAPN 干预后 HepG-2 细胞炎症信号 Caspase-1 水平下调。Caspase-1 是白细胞介素（IL）-17A/IL-1β—NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3（NLRP3）炎症信号通路激活的关键蛋白，Caspase-1 水平下调可抑制 IL-1β炎症因子分泌[19]。因此，APN 干预抑制 Caspase-1 介导的 NLRP3 炎症信号通路，可能亦与其拮抗砷诱导的 HepG-2 细胞脂质沉积有关。

综上，本研究通过体外实验证实了砷暴露与肝细胞脂肪变性和肝脏脂质沉积的因果关系，而 APN 通过 AKT 信号拮抗砷暴露诱导 HepG-2 细胞脂质沉积，提示存在于人体外周血中的 APN 水平，对于维护肝细胞线粒体脂质代谢功能具有重要价值。APN 对砷暴露 HepG-2 细胞中 Caspase-1 炎症信号的抑制效应，亦提示 APN 改善肝细胞炎症和维持肝细胞胰岛素敏感性的重要生理意义。未来可通过砷暴露和 rAPN 或 AKT 抑制剂干预的动物实验，以进一步证实 APN 通过 AKT 信号拮抗肝脏脂肪变的分子机制。

参 考 文 献

[1] Roychowdhury T, Uchino T, Tokunaga H, et al. Survey of arsenic in food composites from an arsenic-affected area of West Bengal, India[J]. Food Chem Toxicol, 2002, 40(11):1611-1621.

[2] Gundert-Remy U, Damm G, Foth H, et al. High exposure to inorganic arsenic by food: the need for risk reduction[J]. Arch Toxicol, 2015, 89(12): 2219-2227.

[3] Qiu T, Pei P, Yao X, et al. Taurine attenuates arsenic-induced pyroptosis and nonalcoholic steatohepatitis by inhibiting the autophagic-inflammasomal pathway[J]. Cell Death Dis, 2018, 9(10): 946.

[4] Fang H, Judd RL. Adiponectin Regulation and Function[J]. Compr Physiol, 2018, 8(3): 1031-1063.

[5] Achari AE and Jain SK. Adiponectin, a Therapeutic Target for Obesity, Diabetes, and Endothelial Dysfunction[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(6): 1321.

[6] Herzig S, Shaw RJ. AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2018, 19(2): 121-135.

[7] Yadav A, Kataria MA, Saini V, et al. Role of leptin and adiponectin in insulin resistance[J]. Clin Chim Acta, 2013, 41(7): 80-84.

[8] Dong Z, Zhuang Q, Ye X, et al. Adiponectin Inhibits NLRP3 Inflammasome Activation in Nonalcoholic Steatohepatitis via AMPK-JNK/ErK1/2-NFκB/ROS Signaling Pathways[J]. Front Med (Lausanne), 2020, 7: 546445.

[9] Palanisamy K, Nareshkumar RN, Sivagurunathan S, Raman R, Sulochana KN, Chidambaram S. Anti-angiogenic effect of adiponectin in human primary microvascular and macrovascular endothelial cells[J]. Microvasc Res, 2019, 122: 136-145.

[10] Levy DS, Kahana JA, Kumar R. AKT inhibitor, GSK690693, induces growth inhibition and apoptosis in acute lymphoblastic leukemia cell lines[J]. Blood, 2009, 113(8): 1723-1729.

[11] 宋选波，赵丽军，魏育丹. 砷暴露与糖、脂代谢关系的研究进展[J]. 中华地方病学杂志，2018，37（2）：165-168.

[12] 梅靖，郑勇. 砷中毒与非砷中毒以及脂肪肝患者其肝实质超声声像图差异[J]. 中国地方病防治杂志，2018，33(4)：448.

[13] Zhang DG, Zhao T, Hogstrand C, et al. Oxidized fish oils increased lipid deposition via oxidative stress-mediated mitochondrial dysfunction and the CREB1-Bcl2-Beclin1 pathway in the liver tissues and hepatocytes of yellow catfish. Food Chem, 2021, 360: 129814.

[14] Chen H, Zhang L, Li X, et al. Adiponectin activates the AMPK signaling pathway to regulate lipid metabolism in bovine hepatocytes[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2013, 138: 445-454.

[15] Liao X, Song L, Zhang L, et al. LAMP3 regulates hepatic lipid metabolism through activating PI3K/Akt pathway[J]. Mol Cell Endocrinol, 2018, 470: 160-167.

[16] Rizwan H, Pal S, Sabnam S, et al. High glucose augments ROS generation regulates mitochondrial dysfunction and apoptosis via stress signalling cascades in keratinocytes[J]. Life Sci, 2020, 241: 117148.

[17] Wang A, Liu M, Liu X, et al. Up-regulation of adiponectin by resveratrol: the essential roles of the Akt/FOXO1 and AMP-activated protein kinase signaling pathways and DsbA-L[J]. J Biol Chem, 2011, 286(1):

60-66.

[18] Liu M, Zhou L, Xu A, et al. A disulfide-bond A oxidoreductase-like protein (DsbA-L) regulates adiponectin multimerization[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(47): 18302-18307.

[19] Zhang S, Yu N, Zhang R, et al. Interleukin-17A Induces IL-1β Secretion From RPE Cells Via the NLRP3 Inflammasome[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2016, 5(7): 312-319.